

CURSO DE DOUTORAMENTO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS APLICADAS À SAÚDE

Unidade curricular:

CURSO AVANÇADO EM EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS

Curricular Unit:

ADVANCED COURSE IN PROTEIN EXPRESSION

Docente responsável (preencher o nome completo):

Responsible teacher (fill in the fullname):

ODÍLIA DOS ANJOS PIMENTA MARQUES QUEIRÓS

Objetivos da unidade curricular e competências a desenvolver (1000 caracteres):

A unidade curricular (UC) dá uma formação científica e técnica a nível avançado na área da produção e estudo de proteínas recombinantes, uma área com grande aplicabilidade ao nível da indústria farmacêutica e biomédica. A UC irá focar: 1) os sistemas de expressão mais utilizados, indicando as vantagens e desvantagens de cada um deles; 2) os mais recentes avanços nesta área; 3) e as principais ferramentas disponíveis. Pretende-se que os alunos adquiram conhecimentos das metodologias e ferramentas disponíveis para elaborarem uma estratégia de clonagem, expressão, purificação e análise da funcionalidade de proteínas recombinantes com potencial aplicação biotecnológica e/ou biomédica. Neste sentido, serão estudados os sistemas de expressão heteróloga de proteínas recombinantes mais utilizando, procarióticos e eucarióticos, assim como sistemas cell-free. Serão apresentadas as vantagens e desvantagens destes sistemas e as estratégias para ultrapassar as limitações.

Objectives of the curricular unit and competences to be developed

The aim of the curricular unit (UC) is to give scientific and technical training in an advanced level in the field of production of recombinant proteins, an area with high level of applicability in biomedical and pharmaceutical industries. The UC will focus on: 1) the most used expression systems, indicating the advantages and disadvantages of each, 2) the most recent advances in this area, 3) and the main tools available. The students should acquire knowledge of the methodologies and tools available that allow them to develop a strategy for cloning, expression, purification and analysis of the functionality of recombinant proteins with potential biotechnological and / or biomedical application. Thus,

heterologous expression system of recombinant proteins will be studied in the UC: prokaryotic and eukaryotic as well as cell-free systems. The UC will cover the advantages and disadvantages of these systems and strategies to overcome their limitations.

Conteúdos programáticos (1000 caracteres):

Conceitos gerais de expressão heteróloga de proteínas. Escolha do organismo hospedeiro. Sistemas de expressão em *Escherichia coli*: o sistema pET. Estratégias para promover a expressão das proteínas na fração solúvel. Formação de corpos de inclusão e refolding de proteínas. Sistemas de expressão em levedura. Vantagens, limitações e ferramentas moleculares disponíveis. O sistema *Pichia pastoris*. Sistemas de expressão heteróloga noutras leveduras não convencionais. Estratégias para clonagem em vetores de expressão. Tags utilizados em proteínas de fusão para purificação, deteção e para melhorar algumas propriedades, nomeadamente a solubilidade. Limitações na expressão heteróloga: Codon usage, toxicidade, estabilidade e modificações pós-traducionais da proteína. Engenharia de proteínas. Mutagénese dirigida. Expressão de proteínas em sistemas cell-free. Exemplos de produção de proteínas com interesse biotecnológico e biomédico.

Syllabus

General concepts of heterologous protein expression. Choice of host organism. Expression systems in *Escherichia coli*: the pET system. Strategies to achieve the expression of the protein in the soluble fraction. Formation of inclusion bodies and refolding of proteins. Expression systems in yeast. Benefits, limitations and molecular tools available. The system *Pichia pastoris*. Heterologous expression systems in other non-conventional yeasts. Strategies for cloning into expression vectors. Tags used in fusion proteins for purification, detection and improvement of some properties, namely solubility. Limitations in heterologous expression of proteins: Codon usage, toxicity, stability and post-translational modifications of the protein. Protein engineering. Mutagenesis. Expression of proteins in cell-free systems. Examples of production of proteins with biotechnological and biomedical interest

Referências bibliográficas (bibliography)

(máximo três títulos):

Bernard R. Glick and Jack J. Pasternak (2010). "Molecular Biotechnology: Principles & Applications of Recombinant DNA", 4th edition. ASM Press, Washington, D.C.
Susan R. Barnum and Carol M. Barnum (2004) "Biotechnology: An Introduction", 2nd edition. Wadsworth Publishing Company
Diversos artigos científicos peer-review

O regente: (data e nome completo):